

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
23 de Junio de 2005 (23.06.2005)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2005/056113 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: A61P 27/02, A61K 9/08

(74) Mandatario: ASTIZ SUAREZ, Jose Enrique; C/ Foruny, 7, E-28010 Madrid (ES).

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2004/000549

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Fecha de presentación internacional:
9 de Diciembre de 2004 (09.12.2004)

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(25) Idioma de presentación:
español

(26) Idioma de publicación:
español

Declaración según la Regla 4.17:
— sobre la calidad de inventor (Regla 4.17(iv)) sólo para US

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200302898
9 de Diciembre de 2003 (09.12.2003) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): UNIVERSIDAD MIGUEL HERNANDEZ [ES/ES]; Edificio Helike.Avda. de la Universidad,s/n, Elche, E-Alicante (ES).

(72) Inventores; e
(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): BEL-MONTE MARTINEZ, Carlos [ES/ES]; Edificio Helike.Avda. de la Universidad, s/n, Elche, E-Alicante (ES). GALLAR MARTINEZ, Juana [ES/ES]; Edificio Helike.Avda. de la Universidad, s/n, Elche, E-Alicante (ES). ACOSTA BOJ, M^aCarmen [ES/ES]; Edificio Helike.Avda. de la Universidad,s/n, Elche, E-Alicante (ES).

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: COMPOUNDS FOR THE TREATMENT OF OCULAR DRYNESS CAUSED BY PHOTOREFRACTIVE SURGERY

(54) Título: COMPUESTOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA SEQUEDAD DE LA SUPERFICIE OCULAR PROVOCADA POR LA CIRUGIA FOTORREFRACTIVA

(57) Abstract: The invention relates to compounds for the treatment of ocular dryness caused by photorefractive surgery. Agents which block the electric activity of injured nerve endings of the neuroma can be used for the treatment of ocular dryness caused by photorefractive surgery, such as excimer laser photorefractive keractomy or laser-assisted in-situ keratomileusis. The administration of said blocking agents effectively reduces the sensations of ocular dryness, said agents including antiepileptics, anticonvulsants, antiarrhythmics, tricyclic antidepressants and local anaesthetics and, in particular, lidocaine, tocainidine, phenytoin, carbamazepine, lamotrigine, mexiletine and pregabalin.

(57) Resumen: Los agentes bloqueantes de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma son útiles para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva, como la keractomía fotorrefractiva con laser excimer o la keratomileusis in situ asistida con láser. La administración de dichos agentes bloqueantes, que incluyen antiepilépticos, anticonvulsivos, antiarrítmicos, antidepresivos tricíclicos y anestésicos locales y en particular, incluyen la lidocaina, la tocainidina, la fenitoína, la carbamazepina, la lamotrigina, la mexiletina y la pregabalina, reducen de manera efectiva las sensaciones de sequedad ocular.

WO 2005/056113 A1

**COMPUESTOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA SEQUEDAD DE LA
SUPERFICIE OCULAR PROVOCADA POR LA CIRUGIA
FOTORREFRACTIVA**

5

Esta invención está relacionada con el campo de la medicina humana y animal, y específicamente con compuestos para el tratamiento de enfermedades oculares.

10 **ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR**

La cirugía fotorrefractiva es un procedimiento quirúrgico, usado para corregir los defectos de refracción en el ojo humano y que se basa en la modificación de la forma de la superficie corneal anterior. La queratectomía fotorrefractiva 15 con láser excimer (PRK), la keratomileusis in situ con láser (LASIK) son los procedimientos más comúnmente utilizados hoy para corregir la miopía. Los síntomas de ojo seco son los más frecuentes de entre las molestias subjetivas de larga duración descritas por los pacientes sometidos a este tipo de cirugía. Un estudio con 231 pacientes de PRK y 550 de LASIK llevado a 20 cabo por Hovanesian (cfr. Hovanesian JA, Shah SS, Malone RK. (2001) Symptoms of dry eye and recurrent erosion syndrome after refractive surgery. J. Cataract Refract. Surg. 27: 577-584) mostró una incidencia de síntomas de ojo seco en el 43% y el 48% respectivamente de estos pacientes, apareciendo predominantemente al 25 despertarse por la mañana.

La alta incidencia de síntomas subjetivos de ojo seco en los pacientes que han sufrido cirugía LASIK se ha interpretado como debida a una reducción de la secreción lacrimal refleja en esos pacientes. Diversos autores han medido 30 la producción de lágrimas y el ritmo de claración lacrimal tras LASIK (cfr. Benitez-del-Castillo JM, del Rio T, Iradier T, Hernandez JL, Castillo A and Garcia-Sanchez J. (2001) Decrease in tear secretion and corneal sensitivity

after laser in situ keratomileusis. Cornea 20:30-32. Toda I, Asano-Kato N, Komai-Hori Y, Tsubota K. (2001) Dry eye after laser in situ keratomileusis. Am J Ophthalmol. 132:1-7).

En todos los casos se observó una depresión modesta de la producción de lágrimas aunque la estabilidad de la película lacrimal permaneció inalterada. Existe la idea generalizada de que la secreción lacrimal basal está mantenida en parte por los impulsos nerviosos que se originan en las terminaciones nerviosas que inervan la superficie ocular (cfr. Lamberts DW, Foster CS, Perry HD.(1979) Schirmer test after topical anesthesia and the tear meniscus height in normal eyes. Arch Ophthalmol. 97: 1082-1085). Cuando esos tejidos son estimulados por estímulos irritantes, la frecuencia de impulsos nerviosos al cerebro aumenta marcadamente y producen un aumento reflejo de la secreción lacrimal. Las estructuras de la superficie ocular y la glándula lacrimal principal formarían así, con las estructuras neurales que las interconectan, una unidad funcional refleja (cfr. Stern ME, Gao J, Siemasko KF, Beuerman RW, Pflugfelder SC. (2004) The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. Exp Eye Res. 78:409-416)

Está admitido de manera general que la denervación producida por la cirugía fotorrefractiva reduce la sensación corneal y como consecuencia, la secreción lacrimal refleja. Y por ello, los síntomas de ojo seco observados en pacientes operados con esta cirugía han sido atribuidos a una secreción lacrimal reducida causada por una reducción de la actividad nerviosa general resultante del daño nervioso en la córnea (cfr. Patel S, Perez-Santonja JJ, Alio JL, Murphy PJ.(2001) Corneal sensitivity and some properties of the tear film after laser in situ keratomileusis. J Refract Surg. 17:17-24)

Para paliar los síntomas de sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva indicados anteriormente, los tratamientos que se emplean en la actualidad son lágrimas artificiales, es decir, soluciones que contienen solución salina fisiológica y algún aditivo viscoelástico (metilcelulosa, ácido hialurónico, etc.). Van dirigidos a humidificar la superficie

ocular durante el mayor tiempo posible. La mayor limitación de estos tratamientos es su baja eficacia, al no actuar directamente sobre las causas de las molestias. Además son tratamientos paliativos, por lo que al suspender el tratamiento volverán a aparecer los síntomas.

5

Por todo ello, es deseable proporcionar agentes terapéuticos para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva.

10 EXPLICACIÓN DE LA INVENCIÓN

Los inventores han encontrado sorprendentemente que las sensaciones de ojo seco después de la cirugía fotorrefractiva provienen de la actividad nerviosa anormal desarrollada por terminaciones nerviosas neuromatosas y 15 en regeneración de los nervios corneales dañados quirúrgicamente. Además han encontrado que las sensaciones descritas como 'de ojo seco' o 'sequedad en el ojo' pueden no reflejar una sequedad real, sino la interpretación subjetiva dada por el paciente a las sensaciones evocadas por esa actividad nerviosa anormal, originada en las fibras nerviosas corneales 20 lesionadas y en regeneración. Estas sensaciones de sequedad pueden ser desencadenadas por otras causas, tales como la presencia local de mediadores de la inflamación, la estimulación por el parpadeo o una sequedad ocular ligera, que en condiciones normales sería insuficiente para activar las terminaciones nerviosas intactas.

25

Estos hechos convierten a las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma en dianas terapéuticas para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva. Los inventores han encontrado que los agentes bloqueantes de la actividad eléctrica de las 30 terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma, son agentes terapéuticos útiles para dicho tratamiento.

Así, la presente invención se refiere al uso de un agente bloqueante de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular humana provocada por la cirugía fotorrefractiva. En 5 una realización particular de la invención, la cirugía fotorrefractiva es una keractomía fotorrefractiva con láser excimer o una keratomileusis in situ asistida con láser. La invención también proporciona un método de tratamiento de un mamífero, incluido un humano, que sufre de sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva, que comprende la 10 administración oftálmica de un agente bloqueante de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma, junto con cantidades apropiadas de excipientes farmacéuticamente aceptables para constituir una formulación tópica.

15 En esta descripción, se entiende por agente bloqueante de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma, un compuesto con capacidad para prevenir o reducir el desarrollo de descargas de impulsos nerviosos en neuromas de fibras nerviosas sensoriales de la piel u otros tejidos, bien espontáneas o evocadas por estimulación mecánica, 20 química o térmica, como consecuencia de la acción bloqueante de tales substancias sobre los canales iónicos, produciendo estabilización de la membrana y regulando la excitabilidad de las neuronas.

En una realización particular de la invención, el agente bloqueante se 25 selecciona entre los que ejercen su acción sobre los canales de sodio, de calcio, de cloro y de potasio dependientes de voltaje. En particular, el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en antiepilépticos, anticonvulsivantes, antiarrítmicos, antidepresivos tricíclicos y anestésicos locales, y combinaciones de los mismos.

30

En realizaciones más particulares, el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en lidocaina, tocainida, análogos n-bencilos de los

compuestos del tipo de la tocainida, mexiletina, lamotrigina, carbamazepina, fenitoína (5,5-difenilhidantoina), amitriptilina, N-feniletil amitriptilina, desipramina, gabapentina, nifekalant, venlafaxina, nefazodona, pregabalina, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos (p.ej. el hicrocloruro de nifekalant). Esta lista recoge a los agentes bloqueantes de la actividad eléctrica de las fibras nerviosas en el neuroma que son bien conocidos como tales, es decir aquellos comercializados o ensayados como agentes bloqueantes de los canales iónicos que están activos en los neuromas, pero el listado de los agentes que en el momento actual están comercializados con ese fin, no pretende limitar el ámbito de compuestos que pueden ser usados en la puesta en práctica de esta invención. Cualquier agente que bloquee o atenúe la excitabilidad anormal de las fibras nerviosas lesionadas y en regeneración puede ser usado de acuerdo con esta invención.

Los resultados experimentales indican que en los días siguientes a la cirugía fotorrefractiva se observa una actividad espontánea aumentada y una respuesta anormal a los estímulos mecánicos y químicos en las fibras nerviosas que inervan la córnea lesionada y que esta actividad nerviosa es similar a la evocada por la sequedad de la superficie ocular en el ojo normal.

Los agentes bloqueantes de la presente invención atenúan la actividad anormal en los nervios de la córnea tras la cirugía y reducen los síntomas de sequedad ocular en pacientes de cirugía fotorrefractiva.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para aplicación oftálmica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente bloqueante como los descritos anteriormente, junto con cantidades apropiadas de excipientes farmacéuticamente aceptables para constituir una formulación oftálmica.

Dependiendo de las circunstancias, un experto en la materia seleccionará un sistema de liberación adecuado para la administración oftálmica de estas composiciones. La actividad bloqueante de los agentes indicados varía

sustancialmente de un compuesto a otro. La dosis efectiva, cuando se trata de administración tópica para tratar la sequedad ocular, está sujeta a un margen de variabilidad igualmente amplio en lo que se refiere a su efectividad terapéutica. Este valor viene determinado por una serie de factores, que

5 incluyen la actividad inherente al propio fármaco, el vehículo en el que se administra, el tamaño del área a tratar, su penetración y biodisponibilidad y la intensidad de la sensación. La capacidad de determinar la dosis efectiva para cualquiera de los compuestos seleccionados, está dentro de las habilidades de que dispone un experto en la materia. Para aplicación oftálmica, las

10 soluciones preferidas se preparan de manera que el agente bloqueante está en una cantidad de entre el 0.0005 y el 1% (peso/volumen), y más particularmente entre el 0.0005 y el 0.1%, en una solución salina como vehículo principal.

15 En la práctica de esta invención, los agentes bloqueantes son administrados de manera que se aporta directamente el fármaco al lugar donde se genera la actividad eléctrica anormal. Se anticipa que éste sería el área inmediata de la lesión. Por ejemplo, el fármaco podría ser aplicado tópicamente, o por algunos medios similares que apliquen el fármaco directamente sobre el área

20 afectada de la superficie ocular. No se pretende que esta invención se practique administrando el fármaco de modo que se asegure que alcanza el sistema nervioso central. De hecho, esto desvirtuaría el propósito de esta invención, que está enfocada a tratar la molestia en su lugar de origen.

25 El pH de tales soluciones oftálmicas debe mantenerse preferiblemente entre 6.5 y 7.2 con un tampón adecuado. Las formulaciones pueden contener también conservantes convencionales, aceptables farmacéuticamente, estabilizadores y/o aumentadores de la penetración así como substancias viscoelásticas incluidas en los preparados de lágrimas artificiales.

30 El vehículo preferido que puede ser usado en las soluciones oftálmicas de la presente invención es agua purificada y preferiblemente una solución salina

fisiológica. Otros vehículos adicionales incluyen, pero no quedan restringidos a agentes viscosos tales como polivinil alcohol, povidona, hidroxipropilmethylcelulosa, poloxámeros, carboximethylcelulosa, carbómeros, hidroxietilcelulosa, ácido hialurónico y sus derivados. Los conservantes 5 preferidos que pueden utilizarse en las formulaciones oftálmicas de la presente invención incluyen, pero no quedan limitados a cloruro de benzalkonio, clorobutanol, timerosal, acetato de fenilmercurio y nitrato de fenilmercurio.

10 Los aumentadores de la penetración pueden ser, por ejemplo, agentes tensioactivos, ciertos solventes orgánicos tales como el dimetilsulfóxido y otros sulfóxidos, dimetilacetamida y pirrolidona; ciertas amidas de aminas heterocíclicas, glicoles (p. ej. propilenglicol); carbonato de propileno; ácido oleico; alquilaminas y derivados; varios agentes tensioactivos catiónicos, 15 aniónicos, no iónicos y agentes tensioactivos anfotéricos y similares.

Se añadirá de ser necesario o conveniente, ajustadores de la tonicidad. Estos incluyen, pero no quedan limitados a sales, particularmente cloruro sódico, cloruro potásico, manitol y glicerina y cualquier otro ajustador de la tonicidad 20 aceptable oftálmicamente. Podrán usarse diversos tampones y medios para ajustar el pH, siempre que la preparación resultante sea aceptable oftálmicamente. De acuerdo con ello, los tampones incluirán tampones de acetato, citrato, fosfato y borato para uso oftálmico. En la misma línea, los antioxidantes aceptables oftálmicamente para ser usados en la presente 25 invención incluyen, pero no quedan limitados a metabisulfito de sodio, tiosulfato de sodio, acetilcisteina, hidroxianisola butilada e hidroxitolueno butilado.

Otros componentes que pueden ser incluidos en las preparaciones oftálmicas 30 son los agentes quelantes. El agente quelante preferido es el edelato bisódico aunque pueden ser usados otros en sustitución o en combinación con éste.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, 5 ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Habiendo detallado las composiciones para las formulaciones tópicas de la presente invención y las instrucciones específicas para su uso en el tratamiento de la sequedad ocular, el experto en la materia conocerá de manera suficiente como 10 desarrollar otras formulaciones y como adaptar el tratamiento (formulaciones, dosis, etc.) a una situación especial. Las siguientes realizaciones particulares se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativas de la presente invención.

15 **EXPOSICIÓN DETALLADA DE MODOS DE REALIZACIÓN**

Estudio nº 1

Se llevó a cabo un estudio clínico para comparar el efecto atenuador que 20 produce la administración tópica de carbamazepina y de un placebo sobre las sensaciones de sequedad ocular que aparecen tras la cirugía fotorrefractiva tipo LASIK. Participaron en el estudio 124 sujetos, varones y mujeres de 21- 45 años de edad, que fueron sometidos a cirugía LASIK rutinaria, electiva y unilateral para la corrección de su miopía. La carbamacepina fue 25 administrada en solución oftálmica al 0.01%. Tras la cirugía, los sujetos recibieron una gota de la medicación estudiada en el ojo operado, dos veces/día durante 14 días consecutivos. Se llevaron a cabo exámenes postoperatorios en los días 1, 3, 7 y 14. La eficacia del tratamiento se valoró midiendo la sensación de sequedad ocular, la intensidad del dolor, y la 30 eficacia analgésica global empleando escalas visual-analógicas independientes. Se registraron también los síntomas de inflamación ocular, sensaciones de quemazón-pinchazo, lagrimeo, etc.

Los resultados de este estudio mostraron una incidencia más reducida de los síntomas de sequedad ocular en los pacientes tratados con carbamazepina que en los tratados con el placebo, siendo la diferencia estadísticamente significativa. También fue significativamente más baja la incidencia de síntomas de sequedad a lo largo del día.

Estudio nº 2

10 Se realizó cirugía fotorrefractiva tipo PRK en tres gatos adultos anestesiados con pentobarbital sódico (nembutal, 40 mg/kg intraperitoneal (i.p.)) Se anestesió además tópicamente la córnea de ambos ojos por instilación de tetracaina 0.1% y clorhidrato de oxibuprocaína 0.4%. Se eliminó manualmente el epitelio corneal y se realizó una ablación en el centro de la 15 córnea de 6 mm de diámetro y 70 μm de profundidad utilizando un excimer láser de rayo único con longitud de onda de emisión de 193 nm, 10 Hz de ritmo de repetición del pulso y una exposición radiante de 180 mJ/cm².

20 Los experimentos de registro nervioso fueron hechos 12-48 horas tras la cirugía. Los animales fueron anestesiados con nembutal (40 mg/kg, i.p.) y mantenidos en un estado de arreflexia durante el experimento por infusión intravenosa de nembutal diluido (5 mg/kg) en la vena safena. Los animales respiraron espontáneamente a través de una cánula traqueal. Se monitorizó de manera continua y se mantuvo estable el CO₂ respiratorio, la temperatura rectal y la presión arterial. Los animales fueron sacrificados al final del experimento con una sobredosis de nembutal.

30 Se realizó el registro extracelular de fibras nerviosas aisladas que inervan la córnea, obtenidas de los nervios ciliares del ojo, empleando para ello electrodos de plata clorurada y equipo electrofisiológico convencional, como se ha descrito anteriormente (cfr. Belmonte, C., Gallar, J., Pozo, M.A.,

Rebollo, I. (1991) Excitation by irritant chemical substances of sensory afferent units in the cat's cornea. *J. Physiol.* 437: 709-725).

Las fibras sensoriales corneales se identificaron por su respuesta a la estimulación mecánica ligera con un pincel húmedo. El umbral mecánico se 5 midió con un estesiómetro de Cochet-Bonnet con un filamento nº 12 (0.1-1.9 mN) y pelos de von Frey calibrados (0.002-2.0 N). Los campos receptores fueron mapeados con un pelo de fuerza supraumbral. La sensibilidad a los estímulos químicos fue explorada aplicando sobre el campo receptor durante 30 s, un pulso de gas contenido 98% CO₂ a un flujo de 80 ml/min.

10

Se midió la velocidad de conducción de las fibras registradas viendo la latencia a choques eléctricos (0.1-0.5 ms, 0.5-3.0 mA) aplicados sobre el campo receptor con un par de electrodos de plata separados 3-5 mm. La distancia de conducción se estimó con un hilo de seda de 0.8 G colocado 15 sobre la trayectoria del nervio.

Las descargas nerviosas y los pulsos de estimulación se registraron en una grabadora magnética FM para análisis computacional 'off line' con el software adecuado (CED 1401plus y Spike2 for Windows). Se midió la actividad 20 espontánea (frecuencia media de descarga en impulsos por segundo) y los cambios en la descarga evocados por los diferentes estímulos. Las fibras fueron agrupadas de acuerdo con la localización de su campo receptor en periféricas y centrales (cfr. TABLA 1). La mayoría de las fibras registradas en las córneas operadas tenían campos receptores dentro y fuera de la zona 25 tratada. Sólo una fibra respondió al estímulo exactamente dentro de la lesión. En función de la localización del campo receptor las fibras fueron clasificadas en fibras con campo alejado de la ablación, cercano a la ablación, dentro y fuera de la ablación y exactamente dentro de la ablación.

30 El umbral mecánico medio de las fibras nerviosas corneales fue más alto en las córneas operadas (cfr. TABLA 2). Tres de las siete fibras con campo receptor periférico y trece de las 26 que tenían campo central presentaron un

umbral al estímulo mecánico fuera de rango en la zona operada. Porcentualmente, el número de fibras con actividad espontánea fue significativamente mayor en las córneas operadas. También lo fue la frecuencia media de esa actividad espontánea tanto en las fibras con campo receptor en la zona central operada como en la periférica (cfr. TABLA 1).

La respuesta de los nociceptores polimodales al estímulo con CO₂ fue explorada en fibras con el campo receptor dentro, en el borde y alejado de la lesión. La respuesta de todas ellas al estímulo con CO₂ fue de menor amplitud y mayor latencia que en las fibras de las córneas no operadas, especialmente cuando se estimulaba la zona del campo receptor localizada en la zona operada. Además, la postdescarga evocada por estímulos con CO₂ fue significativamente mayor en las fibras que inervan las córneas operadas (cfr. TABLA 3).

15

Los resultados muestran que 24-48 horas tras PRK las fibras nerviosas que inervan la zona lesionada presentan una marcada actividad espontánea y una respuesta anormal a los estímulos mecánico y químico, particularmente en lo que se refiere a su postdescarga sostenida. Las fibras con un campo receptor alejado de la herida responden parecido a como lo hacen las de las córneas control (cfr Chen, X., Gallar, J., Pozo, M.A., Baeza, M. and Belmonte, C. (1995) CO₂ stimulation of the cornea: A comparison between human sensation and nerve activity in polymodal nociceptive afferents of the cat. Eur. J. Neurosci. 7: 1154-1163) excepto que presentan una postdescarga más alta.

En conjunto estos resultados muestran que las propiedades funcionales de todas las fibras en las córneas operadas, con o sin daño directo en su campo receptor fueron afectadas por la operación, al compararlas con las control. El umbral mecánico se encontraba aumentado y mostraban alta actividad espontánea y postdescargas prolongadas tras la estimulación.

TABLA 1. Campos receptores de las fibras nociceptivas corneales, registradas tras la PRK

		fibras nociceptoras
córnea central	dentro de la ablación	1
	dentro y fuera	11
	fueras	28
córnea periférica		10

5

TABLA 2. Propiedades funcionales de las fibras corneales nociceptivas.

Dos asteriscos indican datos control de Chen, X., Gallar, J., Pozo, M.A., Baeza, M. and Belmonte, C. (1995) CO₂ stimulation of the cornea: A comparison between human sensation and nerve activity in polymodal nociceptive afferents of the cat. Eur. J. Neurosci. 7: 1154-1163, que son la media de fibras mielínicas y amielínicas. El símbolo † indica p<0.001, y un asterisco indica p<0.05 t-test.

nociceptores corneales	córnea central	córnea periférica	córneas control **
velocidad de conducción (m/s)	3.5 ± 0.5 [0.6-14] (n=36)	3.7 ± 1.0 [0.4-8] (n=8)	3.6 ± 2.5 (n=69)
campo receptor (mm)	7.4 ± 0.6 [3-12] (n=23)	6.5 ± 0.5 [6-7] (n=2)	5.2 ± 0.8 (n=81)
actividad espontánea	0.58 ± 0.18 † [0.02-1.77]	0.76	0.14 ± 0.07

(imp/s)	(15/36)	(1/10)	(n=17)
umbral mecánico (mN)	2.17 ± 0.84 (n=13)	2.33 ± 1.25 (n=4)	0.78 ± 0.01 (n=65)

TABLA 3. Respuesta de las fibras nociceptoras polimodales al CO₂ aplicado en diferentes áreas de su campo receptor. El símbolo † indica p<0.001, y un asterisco indica p<0.05 t-test, diferencias con el control.

estimulación química	dentro de la herida	borde externo de la herida	lejos de la herida	córneas control
latencia	11.2 ± 2.6* n=13	4.6 ± 1.8 n=20	6.1 ± 2.1 n=20	3.9 ± 1.6 n=17
CO ₂ (30s)	0.57 ± 0.17 † n=21	2.07 ± 0.56 n=21	1.64 ± 0.45 n=21	2.4 ± 0.4 n=17
frecuencia pico	5.0 ± 1.5* n=17	8.9 ± 1.8 n=19	8.4 ± 2.5 n=19	10.1 ± 1.8 n=17
tiempo al pico	9.2 ± 2.5* n=17	7.2 ± 1.9* n=20	6.5 ± 2.0 n=20	2.7 ± 0.4 n=17
postdescarga	0.15 ± 0.05 n=21	0.47 ± 0.25 n=21	0.49 ± 0.14* n=21	0.08 ± 0.03 n=17

5

Estudio nº 3

Se realizaron experimentos en quince gatos adultos de ambos sexos, 10 anestesiados con pentobarbital sódico (nembutal, 40 mg/kg, i.p.). Se anestesió tópicamente la córnea de ambos ojos por instilación de tetracaina 0.1% y clorhidrato de oxibuprocaína 0.4%.

Se realizó una herida circular en el centro de la córnea con un trépano de 5 mm de diámetro que penetró 40-50 micrómetros por debajo de la membrana de Bowman. Los animales fueron tratados con antibióticos tópicos y sistémicos, dejándoles recobrarse durante 1-2 semanas.

Los experimentos de registro fueron hechos 7 y 15 días tras la cirugía. Los animales fueron anestesiados con nembutal (40 mg/kg, i.p.) y mantenidos en un estado de arreflexia durante el experimento, por infusión intravenosa de nembutal diluido (5 mg/kg) en la vena safena. Los animales respiraron espontáneamente a través de una cánula traqueal. Se monitorizó y se mantuvo estable de manera continua, el CO₂ respiratorio, la temperatura rectal y la presión arterial. Los animales se sacrificaron con una sobredosis de nembutal al final del experimento.

10 Se realizó el registro extracelular de fibras nerviosas aisladas de la córnea, obtenidas de los nervios ciliares del ojo, empleando electrodos de plata clorurada y equipo electrofisiológico convencional, como se ha descrito anteriormente (cfr. Belmonte, C., Gallar, J., Pozo, M.A., Rebollo, I. (1991) Excitation by irritant chemical substances of sensory afferent units in the cat's cornea. *J. Physiol.* 437: 709-725).

15 Las fibras sensoriales corneales se identificaron por su respuesta a la estimulación ligera con un pincel húmedo. El umbral mecánico se midió con un estesiómetro de Cochet-Bonnet con un filamento nº 12 (0.1-1.9 mN) y con pelos de von Frey calibrados (0.002-2.0 N). Los campos receptores fueron mapeados con un pelo de fuerza supraumbral. La sensibilidad a los estímulos químicos fue explorada aplicando sobre el campo receptor durante 30 s un pulso de gas contenido 98% CO₂ a un flujo de 80 ml/min.

20 Se midió la velocidad de conducción viendo la latencia a choques eléctricos (0.1-0.5 ms, 0.5-3.0 mA) aplicados sobre el campo receptor con un par de electrodos de plata separados 3-5 mm. La distancia de conducción se estimó con un hilo de seda de 0.8 G colocado sobre la trayectoria del nervio.

25 Las descargas nerviosas y los pulsos de estimulación se registraron en una grabadora magnética FM para análisis computacional 'off line' con el software adecuado (CED 1401plus y Spike2 for Windows). Se midió la actividad espontánea (frecuencia media de descarga en impulsos por segundo) y los

cambios en la descarga evocados por los diferentes estímulos.

Las fibras fueron agrupadas de acuerdo con la localización de su campo receptor en periféricas y centrales. La mayoría de las unidades nociceptoras registradas en las córneas lesionadas tenían campos receptores tanto fuera como en el borde de la herida. De acuerdo con la localización del campo receptor las fibras fueron clasificadas como lejos de la herida o cercanos o bordando la herida. Los datos control fueron obtenidos de córneas intactas.

10 La frecuencia de descarga espontánea de las fibras que inervaban la córnea fue mayor en las córneas con lesión que en las intactas. La respuesta de las fibras nociceptoras polimodales a la estimulación química fue explorada en las fibras cuyo campo receptor tocaba el área lesionada y las que lo tenían fuera y lejos de la lesión. La actividad espontánea y la descarga de las fibras 15 en respuesta al estímulo con CO₂ se midieron antes y después de la aplicación tópica de carbamazepina (0.001-0.01%), fenitoína (5,5-difenilhidantoína) (0.001-0.1%), mexiletina (0.001-0.1%), lidocaina (0.0005-0.01%) y tocaidina (0.001-0.01%). Todas estas substancias redujeron de modo dosis-dependiente la actividad espontánea de las fibras que inervaban 20 las zonas de alrededor de la lesión y las respuestas evocadas por pulsos de CO₂ de 30 s de duración a esas áreas.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un agente bloqueante de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la sequedad de la superficie ocular humana provocada por la cirugía fotorrefractiva.
5
2. Uso según la reivindicación 1, donde la cirugía fotorrefractiva es una keratomía fotorrefractiva con láser excimer o una keratomileusis in situ asistida con láser.
10
3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el agente bloqueante se selecciona entre los que ejercen su acción sobre los canales de sodio, de calcio, de cloro y de potasio dependientes de voltaje.
15
4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en antiepilépticos, anticonvulsivantes, antiarrítmicos, antidepresivos tricíclicos y anestésicos locales, y combinaciones de los mismos.
20
5. Uso según la reivindicación 4, donde el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en lidocaina, tocainida, análogos n-bencílicos de los compuestos del tipo de la tocainida, mexiletina, lamotrigina, carbamazepina, fenitoína, amitriptilina, N-feniletil amitriptilina, desipramina, gabapentina, nifekalant, venlafaxina, nefazodona, pregabalina, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
25
6. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la carbamazepina.
30
7. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la fenitoína.

8. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la mexiletina.
9. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la lidocaina.
- 5 10. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la tocaidina.
11. Uso según la reivindicación 5, donde el agente bloqueante es la pregabalina.
- 10 12. Composición farmacéutica para aplicación oftálmica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente bloqueante como se describe en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, junto con cantidades apropiadas de excipientes farmacéuticamente aceptables para constituir una formulación oftálmica.
- 15 13. Composición según la reivindicación 12, donde el agente bloqueante está en una cantidad de entre el 0.0005 y el 1% (peso/volumen).
14. Composición según la reivindicación 13, donde el agente bloqueante está 20 en una cantidad de entre el 0.0005 y el 0.1% (peso/volumen).
15. Método de tratamiento de un mamífero, incluido un humano, que sufre de sequedad de la superficie ocular provocada por la cirugía fotorrefractiva, que comprende la administración oftálmica de un agente bloqueante de la actividad eléctrica de las terminaciones nerviosas lesionadas del neuroma, junto con cantidades apropiadas de excipientes farmacéuticamente aceptables para constituir una formulación tópica.
- 25 16. Método según la reivindicación 15, donde la cirugía fotorrefractiva es una keractomía fotorrefractiva con láser excimer o una keratomileusis in situ asistida con láser.

17. Método según cualquiera de las reivindicaciones 15-16, donde el agente bloqueante se selecciona entre los que ejercen su acción sobre los canales de sodio, de calcio, de cloro y de potasio dependientes de voltaje.

5 18. Método según cualquiera de las reivindicaciones 15-17, donde el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en antiepilépticos, anticonvulsivos, antiarrítmicos, antidepressivos tricíclicos y anestésicos locales, y combinaciones de los mismos.

10 19. Método según la reivindicación 18, donde el agente bloqueante se selecciona del grupo que consiste en lidocaina, tocainida, análogos n-bencílicos de los compuestos del tipo de la tocainida, mexiletina, lamotrigina, carbamazepina, fenitoína, amitriptilina, N-feniletil amitriptilina, desipramina, gabapentina, nifekalant, venlafaxina, nefazodona, pregabalina, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 20. Método según la reivindicación 19, donde el agente bloqueante es la carbamazepina.

20 21. Método según la reivindicación 19, donde el agente bloqueante es la fenitoína.

25 22. Método según la reivindicación 19, donde el agente bloqueante es la mexiletina.

23. Método según la reivindicación 19, donde el agente bloqueante es la lidocaina.

30 24. Método según la reivindicación 19, donde el agente bloqueante es la tocaidina.

25. Método según la reivindicación 19, donde el agente bloqueante es la

pregabalina.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2004/000549

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61P27/02, A61K9/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61P, A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, EPODOC, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03020281 A (ALCON INC) 13.03.2003, page 6, line 11, page 7, line 13, claims 1-3.	1-4, 15-18.
X	US 5767079 A (GLASER ET AL) 16.06.1998, column 1, lines 16-29.	1-4, 15-18.
X	US 6350781 B (SHAHINIA, JR.) 26.02.2002, column 2, lines 12-29, claims.	12-14.
X	US 3374144 A (STOLAR, M. E) 19.03.1968, claim 1.	12-14.

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- “E” earlier document but published on or after the international filing date
- “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
- “T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

03 MAR 2005 (03.03.05)

Date of mailing of the international search report

06 APR 2005 (06.04.05)

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O.

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2004/000549

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 15 to 25 relate to a method for treatment of the human or animal body by therapy. The search was carried out on the basis of the possible effects of the compounds.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claims 1 to 4 and 15 to 18 relate to the use of compounds defined on the basis of their activation mechanism, the result obtained or a known therapeutic activity. The large number of possible compounds included in the definition in these claims and the lack of adequate support by the description make it impossible to carry out a meaningful search for these claims (PCT Article 6).
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/ ES 2004/000549

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03020281 A1	13.03.2003	CA 2455896 A1 EP 1420791 A1 MX P BR 0212151 A JP 2005502678 T	13.03.2003 26.05.2004 27.05.2004 24.08.2004 27.01.2005
US 5767079 A	16.06.1998	WO 9401124 A1 CA 2138644 A1 AU 4668193 A EP 0651650 A1 JP 8502033 T	20.01.1994 20.01.1994 31.01.1994 10.05.1995 05.03.1996
US 6350781 B1	26.02.2002	WO 9519166 A1 CA 2181048 A1 AU 1567795 A AU 6207596 A EP 0757555 A1 US 5610184 A JP 9510961 T US 5760077 A AU 693711 B2	20.07.1995 20.07.1995 01.08.1995 17.10.1996 12.02.1997 11.02.1997 04.11.1997 02.06.1998 02.07.1998
US3374144 A	19.03.1968	NONE	-----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES 2004/000549

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP⁷ A61P27/02, A61K9/08

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

CIP⁷ A61P, A61K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

CIBEPAT, EPODOC, MEDLINE

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
X	WO 03020281 A (ALCON INC) 13.03.2003, página 6, línea 11- página 7, línea 13, reivindicaciones 1-3.	1-4, 15-18.
X	US 5767079 A (GLASER ET AL) 16.06.1998, columna 1, líneas 16-29.	1-4, 15-18.
X	US 6350781 B (SHAHINIA, JR.) 26.02.2002, columna 2, líneas 12-29, reivindicaciones.	12-14.
X	US 3374144 A (STOLAR, M. E) 19.03.1968, reivindicación 1.	12-14.

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.		
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.		

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
03 Marzo 2005 (03.03.2005)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

6 ABR 2005 - 6. 04. 2005

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M.

Funcionario autorizado

H. Aylagas Cancio

C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.
Nº de fax 34 91 3495304

Nº de teléfono + 34 91 3495475

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 2004/000549

Recuadro II Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (Continuación del punto 2 de la primera hoja)

De conformidad con el artículo 17(2)(a), algunas reivindicaciones no han podido ser objeto de búsqueda por los siguientes motivos:

1. Las reivindicaciones nºs: 15-25

se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber:

Las reivindicaciones 15-25 se refieren a un método de tratamiento terapéutico del cuerpo humano o animal.
La búsqueda se ha realizado en base a los posibles efectos de los compuestos.

2. Las reivindicaciones nºs: 1-4, 15-18 (parcialmente)

se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente:

Las reivindicaciones 1-4, 15-18 se refieren al uso de compuestos definidos en base a su mecanismo de actuación, el resultado obtenido o una actividad terapéutica conocida. . El gran número de compuestos posibles incluidos en la definición contenida en dichas reivindicaciones, unido a la falta de una adecuada base en la descripción, hace imposible la realización de una búsqueda provechosa para dichas reivindicaciones (Art. 6 PCT).

3. Las reivindicaciones nºs:

son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la regla 6.4(a).

Recuadro III Observaciones cuando falta unidad de invención (Continuación del punto 3 de la primera hoja)

La Administración encargada de la Búsqueda Internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

1. Dado que todas las tasas adicionales han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.

2. Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda pueden serlo sin un esfuerzo particular que justifique una tasa adicional, esta Administración no ha invitado al pago de ninguna tasa de esta naturaleza

3. Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones nºs:

4. Ninguna de las tasas adicionales solicitadas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones nºs:

Indicación en cuanto a la protesta

Las tasas adicionales han sido acompañadas de una protesta por parte del solicitante.

El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna protesta.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ ES 2004/000549

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
WO 03020281 A1	13.03.2003	CA 2455896 A1 EP 1420791 A1 MX P BR 0212151 A JP 2005502678 T	13.03.2003 26.05.2004 27.05.2004 24.08.2004 27.01.2005
US 5767079 A	16.06.1998	WO 9401124 A1 CA 2138644 A1 AU 4668193 A EP 0651650 A1 JP 8502033 T	20.01.1994 20.01.1994 31.01.1994 10.05.1995 05.03.1996
US 6350781 B1	26.02.2002	WO 9519166 A1 CA 2181048 A1 AU 1567795 A AU 6207596 A EP 0757555 A1 US 5610184 A JP 9510961 T US 5760077 A AU 693711 B2	20.07.1995 20.07.1995 01.08.1995 17.10.1996 12.02.1997 11.03.1997 04.11.1997 02.06.1998 02.07.1998
US3374144 A	19.03.1968	NINGUNO	-----